

# Terapia fotodinâmica na endodontia - revisão de literatura

*Photodynamic therapy in endodontics - review of literature*

Rodrigo Rodrigues Amaral\*

José Cláudio Faria Amorim\*\*

Eduardo Nunes\*\*\*

Janir Alves Soares\*\*\*\*

Frank Ferreira Silveira\*\*\*\*\*

## Resumo

*Objetivo: O presente estudo objetiva discutir os principais fatores que envolvem a terapia fotodinâmica e sua utilização no tratamento endodôntico por meio de uma revisão de literatura. A persistência de microrganismos remanescentes ao preparo químico-mecânico ou a medicação intracanal está relacionada como a principal causa de insucesso na endodontia. Revisão de Literatura e Considerações finais: A terapia fotodinâmica desponta como uma promissora terapia antimicrobiana, sendo utilizada como coadjuvante ao tratamento endodôntico. Consiste numa técnica de fácil e rápida aplicação, que pode ser utilizada em sessão única ou múltiplas sessões, não desenvolvendo formas de resistência microbiana.*

*Palavras-chave: Endodontia. Terapia fotodinâmica.*

## Introdução

Nas últimas décadas, a endodontia evoluiu substancialmente com o desenvolvimento e adoção de novas tecnologias e materiais, facilitando o trabalho do endodontista e diminuindo o tempo para execução do tratamento endodôntico. Apesar disso, a maioria das falhas ou insucessos endodônticos está relacionada com a persistência de microrganismos que resistiram ao preparo químico-mecânico ou à medicação intracanal<sup>1</sup>.

A terapia fotodinâmica desponta como uma nova terapia, coadjuvante ao tratamento endodôntico, na tentativa de eliminar microorganismos persistentes ao preparo químico-mecânico. Sendo de fácil e rápida aplicação clínica, não desenvolve resistência microbiana, podendo ser indicada em tratamentos endodônticos em sessão única ou em múltiplas sessões.

O presente artigo tem como objetivo fazer uma revisão de literatura sobre a utilização da terapia fotodinâmica na endodontia.

## Histórico

A utilização da luz como agente terapêutico tem sido empregada no tratamento de doenças desde a Antiguidade. No Egito, Índia e China utilizava-se a luz solar para tratamento de doenças da pele como psoríase, vitiligo e câncer. O médico grego Heródoto enfatizava a importância da exposição à luz solar para restauração da saúde<sup>2</sup>.

\* Mestre em Clínicas Odontológicas, Prof. Assistente Centro Universitário Newton Paiva, Departamento de Odontologia, Belo Horizonte, MG, Brasil.

\*\* Professor Responsável – Universidade de Itaúna, Faculdade de Odontologia, Itaúna, MG, Brasil.

\*\*\* Doutor, Professor Adjunto da PUC Minas, Departamento de Odontologia, Belo Horizonte, MG, Brasil.

\*\*\*\* Professor Adjunto da UFVJM, Departamento de Odontologia, Diamantina, MG, Brasil.

\*\*\*\*\* Doutor, Professor Adjunto da PUC Minas, Departamento de Odontologia, Belo Horizonte, MG, Brasil; Professor Responsável - Universidade de Itaúna, Faculdade de Odontologia, Itaúna, MG, Brasil.

O conceito de morte celular induzido pela interação de luz e substâncias químicas é reconhecido há mais de cem anos. No ano de 1900, as primeiras experiências com tratamento fotodinâmico foram relatadas por Oscar Raab, um estudante de medicina, e seu professor, Herman Von Tappeiner, em Munique. Eles estudaram o efeito do corante de acridina sobre culturas de paramécios e descobriram que a combinação do corante de acridina e luz foi letal para esses. Durante uma tempestade com ocorrência de muitos raios houve alteração das condições luminosas do ambiente no momento dos experimentos, o que levou os autores a postular que esse efeito era causado pela transferência da energia da luz para a substância química, similar ao que ocorre nas plantas pela absorção da luz pela clorofila. Nem a luz ou o corante isoladamente tiveram qualquer efeito aparente sobre os paramécios, mas juntos foram altamente citotóxicos<sup>2,3</sup>.

## Mecanismo de interação

A terapia fotodinâmica, também conhecida como PDT, acrônimo de *photodynamic therapy*, surge como uma promissora terapia antimicrobiana. Envolve a utilização de um fotossensibilizador (corante), que é ativado pela luz de um específico comprimento de onda na presença de oxigênio. A transferência de energia do fotossensibilizador ativado para o oxigênio disponível resulta na formação de espécies tóxicas de oxigênio, conhecida como oxigênio singlete e radicais livres. Estes são espécimes químicos altamente reativos que danificam proteínas, lípidos, ácidos nucleicos e outros componentes celulares microbianos<sup>4</sup>.

É importante que a fonte de luz seja absorvida pelo corante para que a PDT seja efetiva na inviabilização de células<sup>2</sup>. A maioria das bactérias bucais não absorve a luz visível de *lasers* que operam em baixa potência, com exceção de alguns microrganismos Gram-positivos, *Actinomyces odontolyticus* e *Porphyromonas gingivalis*, que sintetizam porfirinas endógenas<sup>5</sup>. A utilização de um agente de absorção óptica não tóxico que se fixe à parede celular bacteriana atraindo para si a luz *laser* é necessária para que ocorra a ação antimicrobiana sobre as bactérias bucais.

Segundo Machado<sup>6</sup> (2000), a reação envolvida decorre, primariamente, da excitação eletrônica do corante pela luz, seguida de dois mecanismos principais de reação a partir do seu estado excitado. Na reação do tipo I ocorre transferência de elétron entre o fotossensibilizador, no estado tripleto excitado e componentes do sistema, gerando íons-radicaís, que tendem a reagir com o oxigênio no estado fundamental, resultando em produtos oxidados, como peróxido de hidrogênio, íons hidroxila, radicais hidroxila e ânion superóxido, que são tóxicos aos microorganismos. Na reação do tipo II ocorre a trans-

ferência de energia do fotossensibilizador no estado tripleto, com a geração de oxigênio singlete, um agente altamente citotóxico. A habilidade da molécula em formar reação redox ou oxigênio singlete depende da produção suficiente de moléculas no estado tripleto, que, por sua vez, depende da taxa de decaimento de ambos os estados, tripleto e singlete, inicialmente formados<sup>7</sup>.

Em PDT é difícil fazer distinção entre os dois tipos de mecanismos, mas em ambos o mecanismo de dano à célula-alvo é dependente da tensão de oxigênio e concentração do fotossensibilizador<sup>4</sup>. A reação do tipo II é considerada como a predominante no dano fotooxidativo às células microbianas<sup>6</sup>.

No caso dos fotossensibilizadores é importante que o estado tripleto seja bem povoado (presença de muitos elétrons / fótons) e relativamente de maior duração. Se isso ocorrer, o fotossensibilizador excitado terá tempo de reagir com seu ambiente (transferência eletrônica / reações redox), ou transferir sua energia de excitação a uma molécula de oxigênio e produzir o altamente reativo oxigênio singlete. Assim, o fotossensibilizador danifica os alvos biológicos principalmente por oxidação. O importante em PDT é a capacidade de excitar o fotossensibilizador em seu alvo e com mínimo de dano no tecido circunvizinho<sup>3</sup>.

## Efeitos fototóxicos da PDT

A destruição microbiana proporcionada pela PDT em nível molecular é bem estabelecida em muitos casos. A reação do tipo I com água em meio microbiano pode elevar os radicais hidroxila, que podem reagir com biomoléculas ou se combinar para formar peróxido de hidrogênio *in situ*. Os subsequentes resultados citotóxicos incluem a remoção de hidrogênio de moléculas insaturadas, como os fosfolípidos da membrana citoplasmática bacteriana, alterando a permeabilidade e integridade da membrana. A inativação de enzimas da membrana e receptores também é possível.

Na reação do tipo II, o fotossensibilizador no estado tripleto transfere sua energia para o oxigênio molecular, formando *in situ* o oxigênio singlete, que então reage rapidamente com componentes celulares, como a parede celular, ácido nucleico, peptídeos e moléculas envolvidas na manutenção estrutural da parede celular/membrana, tais como fosfolípidos esteróis e peptídeos. O período curto de vida do oxigênio singlete novamente assegura uma resposta localizada.

## Tempo de pré-irradiação

O tempo de pré-irradiação corresponde ao tempo decorrido entre a aplicação do fotossensibilizador no alvo e sua ativação pela luz. É um ponto crítico para o sucesso da PDT, uma vez que, se o fotossensi-

bilizador não estiver próximo ao alvo, sua ativação pela luz irá resultar na formação de espécies tóxicas em local não desejado. A morfologia microbiana pode variar com as espécies, causando diferenças na localização do fotossensibilizador<sup>8</sup>.

O tempo necessário para absorção do corante antes da iluminação é importante para o sucesso na PDT<sup>6</sup>. Nas aplicações da PDT antimicrobiana, espera-se que o corante se una ao microrganismo ou chegue a ultrapassar a barreira da membrana celular e neste período o fotossensibilizador não sofra degradação antes da ativação pela fonte de luz.

## Fotossensibilizadores

O fotossensibilizador deve possuir uma banda de absorção ressonante com o comprimento de onda da fonte de luz a ser utilizada; deve possuir estabilidade biológica, eficiência fotoquímica, seletividade pela célula-alvo e mínimo efeito tóxico às células normais<sup>8</sup>.

Na endodontia, os fotossensibilizadores derivados das fenotiazinas têm sido amplamente empregados nas pesquisas envolvendo PDT<sup>9-13</sup>. As fenotiazinas são compostos heteroaromáticos tricíclicos, corantes azuis, como o corante azul de toluidina e o azul de metileno. Em baixas concentrações não produzem ação citotóxica e a dose necessária para a morte bacteriana é menor que a dose para causar danos a células, como queratinócitos e fibroblastos<sup>14</sup>.

Segundo Fimple et al.<sup>12</sup> (2008), aumentando a concentração do azul de metileno e a densidade de energia da luz ( $J/cm^2$ ), há um aumento na destruição bacteriana. Os principais alvos desses fotoabsorvedores parecem ser componentes do DNA e da membrana celular, causando aumento de sua permeabilidade. De acordo com Wainwright<sup>7</sup> (1998), sua banda de absorção da luz situa-se no comprimento de onda entre 620 nm e 660 nm.

A fotossensibilização de bactérias está relacionada com a carga do fotossensibilizador. Em geral, os de carga neutra ou positiva interagem eficientemente e inativam bactérias Gram-positivas, ao passo que interagem em alguma extensão na membrana externa de bactérias Gram-negativas. A camada de peptidoglicano e ácido lipoteicoico na membrana externa de bactérias Gram-positivas permite a difusão do fotossensibilizador. A membrana externa de bactérias Gram-negativas age como uma barreira física e funcional entre as células e o meio biológico<sup>8,15</sup>.

Segundo Wainwright<sup>7</sup> (1998), as fenotiazinas são mais efetivas contra espécies de microrganismos Gram-positivos do que contra espécies Gram-negativas. O azul de metileno tem sido utilizado como alvo para microrganismos da microbiota endodôntica<sup>10-12</sup>. Em razão de sua natureza hidrofílica, acompanhada de baixo peso molecular e carga

positiva, permite a passagem através dos canais de proteína-porina na membrana externa de bactérias Gram-negativas. O azul de metileno interage predominantemente com macromoléculas lipopolissacarídes aniônicas, participando, assim, do processo de fotossensibilização<sup>8</sup>. Segundo Usacheva et al.<sup>16</sup> (2003), o azul de toluidina, num estudo *in vitro*, interagiu com a endotoxina bacteriana LPS das bactérias Gram-negativas mais significativamente que o azul de metileno, o qual pode ser um dos principais fatores determinantes no efeito fotooxidativo contra bactérias Gram-negativas.

## Fontes de energia

As primeiras fontes de luz utilizadas em PDT foram lâmpadas convencionais, emitindo luz não coerente e policromática, com um forte componente térmico associado. O desenvolvimento dos *lasers* de diodo de baixa intensidade com luz monocromática e coerente facilitou a associação com fotossensibilizadores com banda de absorção ressonante com o comprimento de onda emitido pelo *laser*. A dose de radiação é facilmente calculada, a área de irradiação é controlada focalizando o tratamento. A luz pode ser transmitida por meio de fibra óptica; estas fibras podem receber adaptações para melhor acessar a lesão alvo com microlentes e difusores<sup>2,3</sup>.

Os *lasers* de Hélio-neon (He-Ne) apresentaram bons resultados na redução microbiana de diversas culturas de bactérias e fungos utilizando os corantes azul de toluidina e azul de metileno, demonstrando a importância da ressonância entre o corante e o comprimento de onda emitido pela fonte de luz<sup>17</sup>.

Atualmente são utilizados *lasers* de diodo, emitindo no espectro do vermelho em baixa intensidade, por serem bem absorvidos pelos tecidos biológicos. Na terapia fotodinâmica, os efeitos obtidos não são por incremento de temperatura, mas por reações fotoquímicas entre o fotossensibilizador, luz e o substrato.

Uma fonte de luz alternativa para a PDT são os LEDs (diodos emissores de luz), que podem ser utilizados como fontes de ativação em PDT, apresentando um baixo componente térmico e luz monocromática, com banda estreita de comprimento de onda<sup>18</sup>. Nos LEDs predomina o mecanismo espontâneo de radiação com pouca energia para geração de luz, apresentando largo espectro de luz não coerente e com maior divergência<sup>19</sup>.

## Pesquisas na endodontia

Fimple et al.<sup>12</sup> (2008) investigaram *in vitro* a resposta de infecção polimicrobiana em canais monorradiculares de humanos submetidos à PDT após sensibilização com azul de metileno e exposição à luz. Os espécimes foram contaminados com *Actinomyces israeli*, *Fusobacterium nucleatum*, *Por-*

*phyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*. Os canais radiculares foram expostos ao azul de metileno (25 µg/mL) por 10min e, em seguida, irradiados por meio de fibra ótica com *laser* emitindo no vermelho com comprimento de onda de 665 nm. Foram feitas duas irradiações de 2,5min com energia de fluência de 15 J/cm<sup>2</sup>, com intervalo de 2,5min, totalizando 30 J/cm<sup>2</sup>. Os resultados obtidos com a PDT alcançaram uma redução microbiana de 80% nas unidades formadoras de colônias.

Garcez et al.<sup>20</sup> (2008) avaliaram os efeitos da PDT em vinte portadores de dentes com necrose pulpar e lesão periapical. Amostras microbiológicas foram obtidas após o preparo da cavidade de acesso dos canais radiculares. Posteriormente, os canais foram preparados manualmente até uma lima tipo K # 35, seguido da aplicação de PDT no final da primeira sessão. Os canais foram preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio e os pacientes, atendidos após uma semana. Novas amostras microbiológicas foram obtidas na segunda sessão antes e após nova aplicação de PDT. Os resultados mostraram redução microbiana após terapia endodôntica, visto que a combinação com PDT aumentou a redução microbiana. Neste estudo, a segunda sessão com PDT foi significativamente mais eficiente que a primeira. Os resultados sugerem que a PDT proporcionou uma redução substancial da carga microbiana quando associada ao tratamento endodôntico.

Fonseca et al.<sup>13</sup> (2008) avaliaram *in vitro* os efeitos da PDT em canais radiculares de dentes humanos contaminados com *Enterococcus faecalis*. Os canais foram sensibilizados com azul de toluidina em concentração de 0,0125 %. Os espécimes foram irradiados com *laser* emitindo no vermelho com comprimento de onda de 660 nm, por meio de fibra ótica com energia de fluência de 400 J/cm<sup>2</sup>, por 5min e 20s. Os resultados obtidos evidenciaram uma redução microbiana de 99,9% nas unidades formadoras de colônias.

Foschi et al.<sup>11</sup> (2007) investigaram os efeitos da PDT sobre espécies de *Enterococcus faecalis* em canais radiculares de dentes extraídos. Os dentes foram sensibilizados com azul de metileno (6,25 µg/ml) por 5min. Os canais foram irradiados por meio de fibra ótica com *laser* emitindo no vermelho com comprimento de onda de 665 nm e energia de fluência de 60 J/cm<sup>2</sup>. A PDT alcançou uma redução de 77,5% na viabilidade do *Enterococcus faecalis*.

Soukos et al.<sup>10</sup> (2006) avaliaram *in vitro* os efeitos da PDT em dentes humanos contaminados com biofilmes de *Enterococcus faecalis*. Os dentes foram expostos ao azul de metileno (25 µg/mL) por 5min e, em seguida, irradiados por meio de fibra ótica com *laser* emitindo no vermelho com comprimento de onda 665 nm, com energia de fluência de 222 J/cm<sup>2</sup>. Os resultados evidenciaram uma redução microbiana de 97 %.

Silva Garcez et al.<sup>21</sup> (2006) avaliaram *in vitro* a redução microbiana do *Enterococcus faecalis* sub-

metido à PDT e com solução de hipoclorito de sódio 0,5%. Foi utilizado o fotossensibilizador pasta-base de azuleno e os canais foram irradiados com *laser* emitindo no vermelho com comprimento de onda 685 nm, por 3min com energia de 1,8 J. O fotossensibilizador apenas ou *laser* apenas não apresentaram efeito bactericida algum. A solução química reduziu em 93,25% a carga microbiana. A redução microbiana proporcionada pela PDT alcançou 99,2 % sobre o *E. faecalis*.

## Considerações finais

Após a revisão de literatura, verificou-se que a terapia fotodinâmica surge como uma promissora terapia coadjuvante em endodontia, viabilizando a eliminação de microrganismos persistentes após o preparo químico-mecânico do sistema de canais radiculares. No entanto, ainda não foi estabelecido um protocolo em relação aos parâmetros da luz, fotossensibilizadores e tempo de exposição, ratificando a necessidade de o profissional estar sempre atento às futuras pesquisas científicas na literatura odontológica.

## Abstract

*The persistence of remaining microorganisms to either chemical-mechanical preparation or intracanal medication is reported as the main failure cause in endodontics. Objective: The present study aims at discussing the principal factors that involve the photodynamic therapy as well as its application in the endodontic treatment through a literature review. Literature review and final considerations: The photodynamic therapy has risen as a promising antimicrobial therapy as a support to endodontic treatment. As it is easily and quickly applied, it can be used both in a single session or in multiple ones, besides not allowing forms of microbial resistance.*

*Key words: Endodontics. Photodynamic therapy.*

## Referências

1. Siqueira JF, Rôças I. Clinical implications and microbiology of bacterial persistence after treatment procedures. *J Endod* 2008; 34(11):1291-301.e3.
2. Ackroyd R, Kelty C, Brown N, Reed M. The history of photo-detection and photodynamic therapy. *Photochem Photobiol* 2001; 74(5):656-69.
3. Ribeiro MS, Zezell DM. *Laser* de baixa intensidade. In: Gutknecht N, Eduardo CP. *A odontologia e o laser, a atuação do laser na especialidade odontológica*. 1. ed. São Paulo: Quintessence; 2004. p. 217-40.
4. Konopka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry. *J Dent Res* 2007; 86(8):694-707.
5. König K, Teschke M, Sigusch B, Glockmann E, Eick S, Pfister W. Red light kills bacteria via photodynamic action. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2000; 46(7):1297-303.



6. Machado AEH. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. *Química Nov* 2000; 23(2):237-43.
7. Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *J Antimicrob Chemother* 1998; 42(1):13-28.
8. Wainwright M, Phoenix D, Marland J, Wareing D, Bolton F. A study of photobactericidal activity in the phenothiazinium series. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1997; 19(1):75-80.
9. Seal G, Ng Y, Spratt D, Bhatti M, Gulabivala K. An *in vitro* comparison of the bactericidal efficacy of lethal photosensitization or sodium hypochlorite irrigation on *Streptococcus intermedius* biofilms in root canals. *Int Endod J* 2002; 35(3):268-74.
10. Soukos N, Chen P, Morris J, Ruggiero K, Abernethy A, Som S, et al. Photodynamic therapy for endodontic disinfection. *J Endod* 2006; 32(10):979-84.
11. Foschi F, Fontana C, Ruggiero K, Riahi R, Vera A, Doukas A, et al. Photodynamic inactivation of *Enterococcus faecalis* in dental root canals *in vitro*. *Lasers Surg Med* 2007; 39(10):782-7.
12. Fimple J, Fontana C, Foschi F, Ruggiero K, Song X, Pagonis T, et al. Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection *in vitro*. *J Endod* 2008; 34(6):728-34.
13. Fonseca M, Júnior P, Pallota R, Filho H, Denardin O, Rapoport A, et al. Photodynamic therapy for root canals infected with *Enterococcus faecalis*. *Photomed Laser Surg* 2008; 26(3):209-13.
14. Soukos N, Wilson M, Burns T, Speight P. Photodynamic effects of toluidine blue on human oral keratinocytes and fibroblasts and *Streptococcus sanguis* evaluated *in vitro*. *Lasers Surg Med* 1996; 18(3):253-9.
15. Hamblin M, Hasan T. Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem Photobiol Sci* 2004; 3(5):436-50.
16. Usacheva M, Teichert M, Biel M. The interaction of lipopolysaccharides with phenothiazine dyes. *Lasers Surg Med* 2003; 33(5):311-9.
17. Wilson M, Dobson J, Harvey W. Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation. *Curr Microbiol* 1992; 25(2):77-81.
18. Walsh L. The current status of *laser* applications in dentistry. *Aust Dent J* 2003; 48(3):146-55; quiz 98.
19. Sthal F, Ashworth SH, Jandt KD, Mills RW. Light-emitting-diode (LED) polymerization of dental composites: flexural properties and polymerization potential. *Biomaterials, Guildford* 2000; 21(13):1379-85.
20. Garcez A, Nuñez S, Hamblin M, Ribeiro M. Antimicrobial effects of photodynamic therapy on patients with necrotic pulps and periapical lesion. *J Endod* 2008; 34(2):138-42.
21. Silva Garcez A, Nuñez S, Lage-Marques J, Jorge A, Ribeiro M. Efficiency of NaOCl and laser-assisted photosensitization on the reduction of *Enterococcus faecalis in vitro*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102(4):e93-8.

#### Endereço para correspondência

Frank Ferreira Silveira  
 Pç Dr Augusto Gonçalves, 146 , Sala 909  
 35680-054 Itaúna - MG  
 Fone: (37) 3241-0996  
 E-mail: frankfsilveira@uol.com.br

Recebido: 11.03.2010 Aceito: 24.05.2010